

EUROPEAN PATENT OFFICE

Patent Abstracts of Japan

PUBLICATION NUMBER : 2000193653
 PUBLICATION DATE : 14-07-00

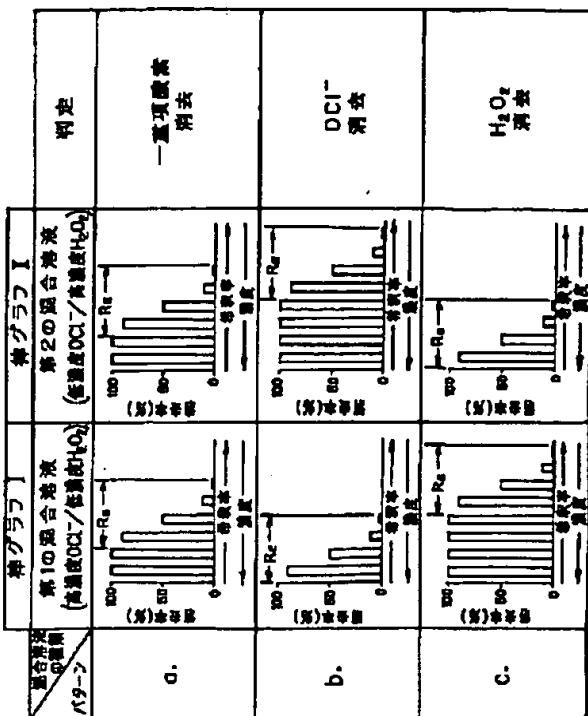
APPLICATION DATE : 28-12-98
 APPLICATION NUMBER : 10372667

APPLICANT : SEITAI HIKARI JOHO KENKYUSHO:KK;

INVENTOR : MAKIUCHI MASAO;

INT.CL. : G01N 33/00 G01N 21/76 G01N 33/15
 G01N 33/50

TITLE : ERASER ERASING CAPABILITY
 DECIDING METHOD



ABSTRACT : PROBLEM TO BE SOLVED: To decide whether an eraser has an erasing capability with respect to IO_2 by deciding whether the eraser has the erasing capability for erasing IO_2 , based on the relation between the concentration of IO_2 obtained in the first step and the dilution ratio of the eraser and the relation between the concentration of IO_2 obtained in the second step and the dilution ratio of the eraser.

SOLUTION: The concentrations of OCI and H_2O_2 contained in a second mixed solution prepared in the second step are inverted to the concentrations in a first mixed solution prepared in the first step before OCI and H_2O_2 are reacted with each other. If an eraser has an erasing capability with respect to only IO_2 within OCI , H_2O_2 and IO_2 when the first and second mixed solutions are prepared, the quantities of IO_2 in the first and second mixed solutions become equal. However the eraser has the erasing capability against OCI or H_2O_2 , the quantities of IO_2 in the first and second mixed solutions differ from each other. The relation between the concentrations of IO_2 obtained in the first and second steps is changed according to whether the eraser has the erasing capability with respect to IO_2 or not.

COPYRIGHT: (C)2000,JPO

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号
特開2000-193653
(P2000-193653A)

(43)公開日 平成12年7月14日(2000.7.14)

(51) Int.Cl.	識別記号	F I	マーク(参考)
G 0 1 N	33/00	G 0 1 N	A 2 G 0 4 5
	21/76		2 G 0 5 4
	33/15		Z
	33/50		E

審査請求 有 請求項の数4 OL (金 9頁)

(21) 出願番号 特願平10-372667

(22) 出願日 平成10年12月28日(1998. 12. 28)

(71) 出題人 393012286

株式会社生体光情報研究所

神奈川県川崎市中原区小杉町1丁目403番地

(72) 癸明者 白石 卓夫

山形県山形市松栄2丁目2番1号 株式会
社生体光情報研究所内

(72)発明者 柿沼 カツ子

山形県山形市松栄2丁目2番1号 株式会
社生体光情報研究所内

—(74)代理人—100094330

弁理士 山田 正紀 (外1名)

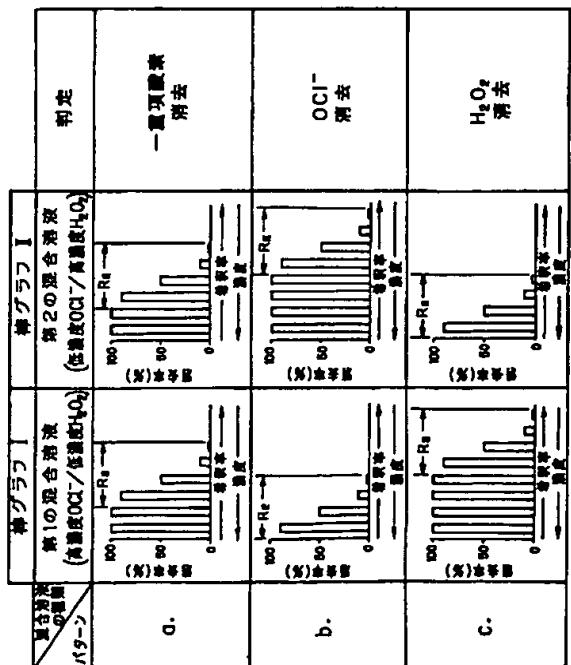
最終頁に統く

(54) 【発明の名称】 消去剤消去能判定方法

(57) 【要約】

【課題】¹O₂消去剤が¹O₂に対して消去能をもつか否かを容易に判定することができる消去剤消去能判定方法を提供する。

【解決手段】 複数の第1の混合溶液内それぞれの 1O_2 の濃度それを求めるとともに、複数の第2の混合溶液内それぞれの 1O_2 の濃度それを求め、複数の第1、第2の混合溶液それについて求めた 1O_2 の濃度と、対照区用混合溶液内の 1O_2 の濃度とから、第1、第2の混合溶液それについて、 1O_2 の濃度の消去率と、消去剤の希釈率との関係を求め、第1、第2の混合溶液それについての、 1O_2 の濃度の消去率と消去剤の希釈率との関係に基づいて、消去剤の消去能の有無を判定する。



【特許請求の範囲】

【請求項1】互いに反応することにより $^1\text{O}_2$ を生成する OC^{1-} および H_2O_2 を互いに反応する前において互いに異なる各所定の濃度で含む第1の混合溶液を、 $^1\text{O}_2$ を消去すると期待される消去剤が所定の溶媒で互いに異なる複数の希釈率に希釈されてなる複数の消去剤溶液それぞれと、 OC^{1-} 溶液と、 H_2O_2 溶液とを混合することにより調製し、 OC^{1-} と H_2O_2 とが反応することにより生成された、各第1の混合溶液内の $^1\text{O}_2$ の濃度を求める第1のステップと、

OC^{1-} および H_2O_2 を、互いに反応する前においてこれら OC^{1-} および H_2O_2 それぞれの濃度が前記第1ステップにおける濃度とは逆転した濃度で含む第2の混合溶液を、前記消去剤が前記所定の溶媒で互いに異なる複数の希釈率に希釈されてなる複数の消去剤溶液それぞれと、 OC^{1-} 溶液と、 H_2O_2 溶液とを混合することにより複数調製し、 OC^{1-} と H_2O_2 とが反応することにより生成された、各第2の混合溶液内の $^1\text{O}_2$ の濃度を求める第2のステップと、

前記第1のステップで求められた $^1\text{O}_2$ の濃度と前記消去剤の希釈率との関係と、前記第2のステップで求められた $^1\text{O}_2$ の濃度と前記消去剤の希釈率との関係とに基づいて、前記消去剤が $^1\text{O}_2$ を消去する消去能の有無を判定する第3ステップとを有することを特徴とする消去剤消去能判定方法。

【請求項2】前記第1のステップのうち、前記第1の混合溶液を複数調製するステップは、 OC^{1-} および H_2O_2 を、互いに反応する前においてこれら OC^{1-} および H_2O_2 の濃度のうちの一方の濃度が $30\mu\text{M}$ 濃度以下、他方の濃度が前記一方の濃度の $1/10$ 以下の濃度で含む第1の混合溶液を複数調製するステップであり、前記第2のステップのうち、前記第2の混合溶液を複数調製するステップは、 OC^{1-} および H_2O_2 を、互いに反応する前においてこれら OC^{1-} および H_2O_2 の濃度のうちの前記他方の濃度が $30\mu\text{M}$ 濃度以下、前記一方の濃度が前記他方の濃度の $1/10$ 以下の濃度で含む第2の混合溶液を複数調製するステップであることを特徴とする請求項1記載の消去剤消去能判定方法。

【請求項3】 OC^{1-} および H_2O_2 を互いに反応する前において互いに異なる各所定の濃度で含む第3の混合溶液を、前記所定の溶媒と、 OC^{1-} 溶液と、 H_2O_2 溶液とを混合することにより調整し、 OC^{1-} と H_2O_2 とが反応することにより生成された、前記第3の混合溶液内の $^1\text{O}_2$ の濃度を求める第4のステップを有し、前記第3のステップが、前記第1のステップで求められた $^1\text{O}_2$ の濃度と前記第4のステップで求められた $^1\text{O}_2$ の濃度との比と前記消去剤の希釈率との関係、および、第2のステップで求められた $^1\text{O}_2$ の濃度と前記第4のステップで求められた $^1\text{O}_2$ の濃度との比と前記消去剤の希釈率との関係とに基づいて、前記消去剤が $^1\text{O}_2$ を消去する

消去能の有無を判定するステップであることを特徴とする請求項1記載の消去剤消去能判定方法。

【請求項4】前記第3ステップが、前記第1のステップにおける希釈率に対する濃度変化のグラフ上の濃度の変化点と、前記第2のステップにおける希釈率に対する濃度変化のグラフ上の濃度の変化点とを比較することにより、前記消去剤が $^1\text{O}_2$ を消去する消去能の有無を判定するステップであることを特徴とする請求項1記載の消去剤消去能判定方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、 $^1\text{O}_2$ を消去すると期待される消去剤の、 $^1\text{O}_2$ に対する消去能の有無を判定する消去剤消去能判定方法に関する。

【0002】

【従来の技術】近年、生体中で生じる活性酸素が、炎症、発ガン、老化等の現象に深く関わっていることが報告されている。活性酸素の主なものとして、スーパーオキシド(O_2^-)、過酸化水素(H_2O_2)、ヒドロキシラジカル(-OH)、次亜塩素酸イオン(OC^{1-})、一重項酸素($^1\text{O}_2$)、過酸化脂質ラジカル($\text{LOO}\cdot$)等がある。動物・植物の生命活動において、これら活性酸素は生理的条件下でも生成し、ストレス・感染等によってその生成量は増大する。これら活性酸素は生体成分に対して反応性が高く、生体中において、成分破壊、組織障害、代謝異常を引き起こし、上述した、炎症、発ガン、老化等の現象へとつながっていく。従って、活性酸素と種々の生体成分との反応性を把握することは、活性酸素の生体への影響を評価するために必須である。また、活性酸素を有効に消去する化学物質を検索することは、炎症、発ガン、老化等の抑制・防止を意図した薬剤開発において重要である。活性酸素と種々の生体成分との反応性を把握し、活性酸素を有効に消去する化学物質を検索するために、種々の活性酸素について、活性酸素標準試料の調整法・活性酸素消去能検定法が開発され、実施されている。

【0003】上述した活性酸素の中でも $^1\text{O}_2$ は生体中での生成の可能性が高く生体成分に対する毒性が高い活性酸素であることから、 $^1\text{O}_2$ を消去する化学物質を検定することは極めて重要である。

【0004】 $^1\text{O}_2$ を消去する化学物質を検定するには、先ず、 $^1\text{O}_2$ を生成し、その生成した $^1\text{O}_2$ に、 $^1\text{O}_2$ を消去する消去能を有すると期待される物質(以下、消去剤と呼ぶ)を添加し、このときの $^1\text{O}_2$ の濃度をモニターすることにより、消去剤の、 $^1\text{O}_2$ に対する消去能の有無の判定が行なわれる。 $^1\text{O}_2$ の濃度のモニターは、例えば、 $^1\text{O}_2$ が基底状態酸素(三重項酸素： $^3\text{O}_2$)に緩和する過程で放出される波長 1270nm の光の強度を検出することにより行なわれる。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】一般に、 $^1\text{O}_2$ を生成させる方法として、(1)光励起した光感受性色素の励起エネルギーの溶存酸素への転移、(2) H_2O_2 溶液と次亜塩素酸塩(通常はナトリウム塩: NaOC1)溶液の混合があるが、(1)の方法は、励起光源として、レーザ等の特殊光源が必要であり、かつ色素の光分解を抑制するために循環させながらパルス光照射をするなどの工夫を要するため、高価で複雑な装置が必要である。さらに、溶液中の $^1\text{O}_2$ 濃度は、用いられる色素・光源・光照射様式によって異なるため、見積・設定が困難であり、定量的な $^1\text{O}_2$ 検出のための標準試料としては不適当である。一方、(2)の方法は、(1)の方法よりも極めて安価に $^1\text{O}_2$ を生成できるため古くから用いられており、反応の化学的検証もなされている。ところが、この

(2)の方法で $^1\text{O}_2$ を生成させその $^1\text{O}_2$ を消去剤で消去する場合、その消去剤が、 $^1\text{O}_2$ ではなく、 OC1^- および H_2O_2 のいずれかを消去する能力を有していると、その消去剤により $^1\text{O}_2$ の生成原料が消去されるため、見かけ上その消去剤が $^1\text{O}_2$ を消去したのと同様の結果が得られる。つまり、 NaOC1 溶液と H_2O_2 溶液とを用いる方法は、安価に $^1\text{O}_2$ を生成できるが、消去剤が $^1\text{O}_2$ に対して消去能をもつものであるか判定することが極めて難しいという問題がある。

【0006】本発明は、上記事情に鑑み、消去剤が $^1\text{O}_2$ に対して消去能をもつか否かを容易に判定することができる消去剤消去能判定方法を提供することを目的とする。

【0007】

【課題を解決するための手段】上記目的を達成する本発明の消去剤消去能判定方法は、

(1)互いに反応することにより $^1\text{O}_2$ を生成する OC1^- および H_2O_2 を互いに反応する前において互いに異なる各所定の濃度で含む第1の混合溶液を、 $^1\text{O}_2$ を消去すると期待される消去剤が所定の溶媒で互いに異なる複数の希釈率に希釈されてなる複数の消去剤溶液それぞれと、 OC1^- 溶液と、 H_2O_2 溶液とを混合することにより調製し、 OC1^- と H_2O_2 とが反応することにより生成された、各第1の混合溶液内の $^1\text{O}_2$ の濃度を求める第1のステップ

(2) OC1^- および H_2O_2 を、互いに反応する前においてこれら OC1^- および H_2O_2 それぞれの濃度が上記第1ステップにおける濃度とは逆転した濃度で含む第2の混合溶液を、上記消去剤が上記所定の溶媒で互いに異なる複数の希釈率に希釈されてなる複数の消去剤溶液それぞれと、 OC1^- 溶液と、 H_2O_2 溶液とを混合することにより複数調製し、 OC1^- と H_2O_2 とが反応することにより生成された、各第2の混合溶液内の $^1\text{O}_2$ の濃度を求める第2のステップ

(3)上記第1のステップで求められた $^1\text{O}_2$ の濃度と上記消去剤の希釈率との関係と、上記第2のステップで求

められた $^1\text{O}_2$ の濃度と上記消去剤の希釈率との関係に基づいて、上記消去剤が $^1\text{O}_2$ を消去する消去能の有無を判定する第3のステップを有することを特徴とする。

【0008】本発明では、第2のステップで調製される第2の混合溶液に含まれる OC1^- および H_2O_2 それぞれの濃度は、 OC1^- および H_2O_2 が互いに反応する前において、第1のステップで調製される第1の混合溶液における濃度とは逆転した濃度である。このように第1、第2の混合溶液を調製すると、消去剤が、 OC1^- 、 H_2O_2 、および $^1\text{O}_2$ のうち、 $^1\text{O}_2$ のみに対して消去能をもつ場合、第1、第2の混合溶液内それぞれの $^1\text{O}_2$ の量は等しくなるが、一方、消去剤が OC1^- もしくは H_2O_2 に対して消去能をもつ場合、第1、第2の混合溶液内それぞれの $^1\text{O}_2$ の量は互いに異なる。つまり、第1、第2のステップで求められた $^1\text{O}_2$ の濃度それぞれの関係は、消去剤が $^1\text{O}_2$ に対して消去能をもつか否かに応じて異なる。従って、第1のステップで求められた $^1\text{O}_2$ の濃度と消去剤の希釈率との関係と、第2のステップで求められた $^1\text{O}_2$ の濃度と消去剤の希釈率との関係とを比較することにより、消去剤が $^1\text{O}_2$ を消去する消去能の有無を判定することができる。また、消去剤が OC1^- もしくは H_2O_2 に対して消去能をもつ場合、消去剤が OC1^- に対して消去能をもつか、 H_2O_2 に対して消去能をもつかに応じて、第1、第2の混合溶液内それぞれの $^1\text{O}_2$ の量の大小関係は逆転する。従って、第1、第2のステップで求められた $^1\text{O}_2$ の濃度と消去剤の希釈率との関係と、第2のステップで求められた $^1\text{O}_2$ の濃度と消去剤の希釈率との関係とを比較することにより、消去剤が $^1\text{O}_2$ を消去する消去能の有無を判定することができるだけでなく、その消去剤が OC1^- ないし H_2O_2 に対し消去能があるか否かを判定することができる。

【0009】ここで本発明の消去剤消去能判定方法は、上記第1のステップのうち、上記第1の混合溶液を複数調製するステップは、 OC1^- および H_2O_2 を、互いに反応する前においてこれら OC1^- および H_2O_2 の濃度のうちの一方の濃度が $30 \mu\text{M}$ 濃度以下、他方の濃度が上記一方の濃度の $1/10$ 以下の濃度で含む第1の混合溶液を複数調製するステップであり、上記第2のステップのうち、上記第2の混合溶液を複数調製するステップは、 OC1^- および H_2O_2 を、互いに反応する前においてこれら OC1^- および H_2O_2 の濃度のうちの上記他方の濃度が $30 \mu\text{M}$ 濃度以下、上記一方の濃度が上記他方の濃度の $1/10$ 以下の濃度で含む第2の混合溶液を複数調製するステップであることが好ましい。

【0010】 OC1^- と H_2O_2 とが反応し $^1\text{O}_2$ が生成すると、 $^1\text{O}_2$ は基底状態の酸素 $^3\text{O}_2$ に緩和する過程において、 1300 nm 帯の発光を伴う。従って、この 1300 nm 帯の光を受光素子で受光し、その受光素子の受光量を求ることにより、生成した $^1\text{O}_2$ を定量的に検出す

ることができる。ところで、 OC^- と H_2O_2 とを反応させて ${}^1\text{O}_2$ を生成するにあたり、例えば、 OC^- および H_2O_2 が互いに反応する前においてそれぞれ数ミリモル濃度含まれるような混合溶液を調製すると、通常、 ${}^1\text{O}_2$ の生成反応は約0.5秒以内に終結する。つまり、混合溶液調整後、0.5秒以内に ${}^1\text{O}_2$ の生成反応が終了し、生成した ${}^1\text{O}_2$ のうち、消去剤で消去されずに混合溶液内に残っている ${}^1\text{O}_2$ それは、ほぼ同時に ${}^3\text{O}_2$ に緩和して1300 nm帯の光を発し、 ${}^1\text{O}_2$ の濃度は急激に薄くなる。このため、1300 nm帯の光が発光されている発光時間が極めて短く、受光素子で安定に光を受光することが困難であり、 ${}^1\text{O}_2$ の検出を定量的に行なうことが難しい。これに対し、上記のように、 OC^- および H_2O_2 を、互いに反応する前においてこれら OC^- および H_2O_2 の濃度のうちの一方の濃度を30 μM濃度以下、他方の濃度を上記一方の濃度の1/10以下の濃度とすることにより、消去剤で消去されずに混合溶液内に残っている ${}^1\text{O}_2$ の濃度は薄くなりにくい。従って、 ${}^1\text{O}_2$ が ${}^3\text{O}_2$ に緩和する過程において発せられる1300 nm帯の微弱光の発光時間は、 OC^- および H_2O_2 を数ミリモル濃度含む混合溶液における1300 nm帯の微弱光の発光時間よりも長くすることができる。従って、受光素子で安定に光を受光することができ、 ${}^1\text{O}_2$ の検出を定量的に行なうことが容易となる。

【0011】ここで、本発明の消去剤消去能判定方法は、 OC^- および H_2O_2 を互いに反応する前において互いに異なる各所定の濃度で含む第3の混合溶液を、上記所定の溶媒と、 OC^- 溶液と、 H_2O_2 溶液とを混合することにより調整し、 OC^- と H_2O_2 とが反応することにより生成された、上記第3の混合溶液内の ${}^1\text{O}_2$ の濃度を求める第4のステップを有し、上記第3のステップが、上記第1のステップで求められた ${}^1\text{O}_2$ の濃度と上記第4のステップで求められた ${}^1\text{O}_2$ の濃度との比と上記消去剤の希釈率との関係、および、第2のステップで求められた ${}^1\text{O}_2$ の濃度と上記第4のステップで求められた ${}^1\text{O}_2$ の濃度との比と上記消去剤の希釈率との関係とに基づいて、上記消去剤が ${}^1\text{O}_2$ を消去する消去能の有無を判定するステップであることが好ましい。

【0012】第4のステップで調整される混合溶液には消去剤は含まれていない。従って、第1、第2のステップそれぞれで求められた ${}^1\text{O}_2$ の濃度それと、上記第4のステップで求められた ${}^1\text{O}_2$ の濃度との比を求ることにより、消去剤が消去能を有するか否かを容易に判定することができる。

【0013】ここで、本発明の消去剤消去能判定方法は、上記第3ステップが、上記第1のステップにおける希釈率に対する濃度変化のグラフ上の濃度の変化点と、上記第2のステップにおける希釈率に対する濃度変化のグラフ上の濃度の変化点とを比較することにより、上記

消去剤が ${}^1\text{O}_2$ を消去する消去能の有無を判定するステップであることが好ましい。

【0014】上記第1のステップにおける希釈率に対する濃度変化をグラフで表すとともに、上記第2のステップにおける希釈率に対する濃度変化をグラフで表すと、それぞれのグラフ上の濃度の変化点の、希釈率を表す軸方向に関する相対的な位置を比較することにより、消去剤が ${}^1\text{O}_2$ を消去する消去能の有無を判定することができる。

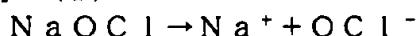
【0015】

【発明の実施の形態】以下、本発明の実施形態について説明する。

【0016】先ず、 NaOC^- 溶液および H_2O_2 溶液を用意する。 NaOC^- は、溶液中で

【0017】

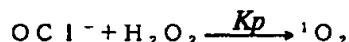
【数1】…(1)



【0018】の形に解離する。この OC^- は、 H_2O_2 と反応すると、(2)式に示すように、 ${}^1\text{O}_2$ を生成する。

【0019】

【数2】…(2)



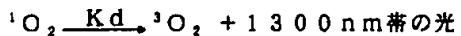
【0020】ここで、(2)式の K_p は化学定数である。

【0021】(1)式、(2)式より、 NaOC^- 溶液と H_2O_2 溶液とを混合することで ${}^1\text{O}_2$ が生成する。つまり、 NaOC^- 溶液および H_2O_2 溶液が ${}^1\text{O}_2$ の生成原料である。尚、本発明では、(2)式に示すように、 ${}^1\text{O}_2$ を生成させるために、 H_2O_2 の他に OC^- が必要であり、その OC^- を生成させるため、本実施形態では NaOC^- 溶液を用いているが、 NaOC^- 溶液の代わりに、 OC^- を生成する別の溶液を用いてもよい。

【0022】また、 NaOC^- 溶液および H_2O_2 溶液の他に、消去剤が所定の溶媒で高濃度に希釈された消去剤溶液を用意する。これら用意した消去剤溶液と、 NaOC^- 溶液と、 H_2O_2 溶液とを、 OC^- および H_2O_2 を互いに反応する前において、 OC^- を30 μM、 H_2O_2 を0.67 μMの濃度で含む(つまり、 OC^- の濃度が濃く、 OC^- の濃度が薄い)第1の混合溶液が調製されるように混合する。この第1の混合溶液内には、 NaOC^- 溶液と H_2O_2 溶液とが含まれているため、上述したように、 OC^- と H_2O_2 とが反応して ${}^1\text{O}_2$ が生成する。この生成した ${}^1\text{O}_2$ は、以下の式に示すように、基底状態酸素(三重項酸素： ${}^3\text{O}_2$)に緩和し、波長1300 nm帯の光を放出する。

【0023】

【数3】…(3)



【0024】ここで、(3)式のk dは化学定数である。

【0025】本実施形態では、この1300nm帯の光を受光し、その受光された光の光量に基づいて、第1の混合溶液内の、消去剤で消去されずに残った¹O₂の濃度S_tを求める。ところで、この第1の混合溶液は、上記のように、OC⁻とH₂O₂が互いに反応する前において、OC⁻の濃度が30μM、H₂O₂の濃度が0.67μMとなるように調製している。一般に、OC⁻とH₂O₂とを含む混合溶液では、OC⁻とH₂O₂とが互いに反応する前において、OC⁻の濃度およびH₂O₂の濃度のうち、濃い方の濃度を30μM以下とし、薄い方の濃度を、濃い方の濃度の1/10以下に設定すると、混合溶液内に生成した¹O₂の濃度(OC⁻とH₂O₂の他に消去剤も含む混合溶液においては、消去剤で消去されずにその混合溶液内に残った¹O₂の濃度)が薄くなりにくくなる。このように、¹O₂の濃度が薄くなりにくくなると、(3)式に示す、1300nm帯の光の発光が数秒間にわたって行われ、受光素子で安定に光を受光することができ、¹O₂の検出を定量的に行うことが容易となる。

【0026】以下に、濃い方の濃度を30μM以下、薄い方の濃度を、濃い方の濃度の1/10以下に設定することにより、OC⁻とH₂O₂とを含む混合溶液内の¹O₂の濃度が薄くなりにくくなる様子について、図1を参考しながら説明する。

【0027】図1は、その説明のグラフである。

【0028】このグラフは、OC⁻とH₂O₂とを含む混合溶液を、OC⁻とH₂O₂とが互いに反応する前において、OC⁻の濃度およびH₂O₂の濃度のうち、OC⁻の濃度が30μM、H₂O₂の濃度が0.67μMとなるように混合したときの¹O₂の濃度変化を示すグラフである。ここでは、その混合溶液を、NaOC1溶液、H₂O₂溶液、および所定の溶媒を混合することにより調製した(すなわち、ここでは、混合溶液には消去剤は含まれていない)。

【0029】このグラフの横軸は、NaOC1溶液、H₂O₂溶液、および所定の溶媒を混合してからの経過時間、左側の縦軸は、混合溶液から発せられる1300nm帯の光強度、右側の縦軸は¹O₂の濃度である。

【0030】経過時間が0.2秒では¹O₂の濃度は約0.26pMであり、5秒では¹O₂の濃度は0.17pMである。従って、NaOC1溶液、H₂O₂溶液、および所定の溶媒を混合してから5秒後の¹O₂の濃度は、混合直後の¹O₂の濃度の約70%のレベルに維持されていることがわかる。ところで、OC⁻とH₂O₂とを含む混合溶液を調製して¹O₂を生成させるにあたり、OC⁻とH₂O₂とが互いに反応する前において、混合溶液内

のOC⁻とH₂O₂とのうち、濃い方の濃度を数ミリモル濃度以上に設定すると、この場合、NaOC1溶液、H₂O₂溶液、および所定の溶媒を混合してから5秒後の¹O₂の濃度は、混合直後の¹O₂の濃度の約20%以下に減少する。これに対し、上記のように、OC⁻の濃度およびH₂O₂の濃度のうち、濃い方の濃度を30μM以下、薄い方の濃度を、濃い方の濃度の1/10以下に設定することにより、図1に示されるように、¹O₂の濃度は薄くなりにくくなる。第1の混合溶液は、上記のように、OC⁻とH₂O₂が互いに反応する前において、OC⁻の濃度が30μM、H₂O₂の濃度が0.67μMとなるように調製している。従って、第1の混合溶液においても、消去剤で消去されずに残った¹O₂の濃度は薄くなりにくくなる。このように¹O₂の濃度が薄くなりにくくなる理由は以下のように考えられる。

【0031】OC⁻とH₂O₂とを含む混合溶液は、その混合溶液内のOC⁻とH₂O₂とが互いに反応する前において、OC⁻の濃度とH₂O₂の濃度との差が十分大きいとすると、OC⁻の濃度とH₂O₂の濃度のうち、濃い方の濃度をA、薄い方の濃度をBとして、その混合溶液中の¹O₂濃度は次式で表される。

【0032】

【数4】…(4)

$$(^1\text{O}_2 \text{ 濃度}) = \frac{kp}{kd} \cdot A \cdot B (e^{-(kp)t} - e^{-(kd)t})$$

【0033】ここで、kpは(2)式、kdは(3)式の反応の化学定数、tはOC⁻とH₂O₂とを混合してからの経過時間である。(4)式より、OC⁻とH₂O₂とを含む混合溶液内の¹O₂濃度の時間変化は、濃い方の濃度Aに依存する。従って、濃い方の濃度Aの値を小さくすればするほど、経過時間に対する¹O₂の濃度を薄くしにくくすることができると考えられる。

【0034】このように、¹O₂の濃度を薄くしにくすことにより、(3)式に示す光の発光が数秒間にわたって行われ、受光素子で安定に光を受光することができ、第1の混合溶液内の¹O₂の検出を定量的に行うことが容易となる。

【0035】また、消去剤を含まずに、OC⁻とH₂O₂を含む対照区用混合溶液を調製する。この混合溶液は、上記の消去剤を希釈するために用いらている溶媒と、NaOC1溶液と、H₂O₂溶液とを用いて、OC⁻とH₂O₂を、OC⁻とH₂O₂が互いに反応する前において、OC⁻の濃度が30μM、H₂O₂の濃度が0.67μMで含むように調製する。このように調製された対照区用混合溶液内の¹O₂の濃度S_cを求める。尚、ここでは、対照区用混合溶液を、OC⁻の濃度が30μM、H₂O₂の濃度が0.67μMで含むよう

に調製しているが、これらの濃度を逆、すなわち、 OC^- の濃度が $0.67 \mu\text{M}$ 、 H_2O_2 の濃度が $30 \mu\text{M}$ で含むように調製してもよい。

【0036】上記のようにして調製した第1の混合溶液内の $^1\text{O}_2$ の濃度 S_T 、および対照区用混合溶液内の $^1\text{O}_2$ の濃度 S_c を求めた後、次式にしたがって $^1\text{O}_2$ の消去率を求める。

【0037】

【数5】…(5)

$$\frac{S_c - S_T}{S_c} \times 100 \quad (\%)$$

【0038】(5)式を用いて求められた消去率が所定の値を超えるものについて、消去剤の消去能が大きいと判定する。この段階では、消去剤は、 H_2O_2 、 OC^- 、 $^1\text{O}_2$ のうちのいずれに対して消去能を有するかはわからない。消去剤の消去能が大きいと判定された場合、その消去剤が、 OC^- 、 H_2O_2 、および $^1\text{O}_2$ のうちのいずれに対して消去能を有するかを判定する。

【0039】以下に、消去剤が、 OC^- 、 H_2O_2 、および $^1\text{O}_2$ のうちのいずれに対して消去能を有するかを判定する方法について説明する。

【0040】 OC^- の濃度を $30 \mu\text{M}$ 、 H_2O_2 の濃度を $0.67 \mu\text{M}$ で含むようにして調製される第1の混合溶液を、消去剤溶液に含まれる消去剤の希釈率を変えて複数調製する。このとき、 $^1\text{O}_2$ の消去率がほぼ 0% になるまで消去剤を希釈した消去剤溶液が含まれるように調製する。具体的には、消去剤が上記所定の溶媒で互いに異なる複数の希釈率に希釈されてなる複数の消去剤溶液それぞれと、 H_2O_2 溶液と、 NaOC 溶液とを混合することにより複数調製する。このように調製された複数の第1の混合溶液内それぞれの $^1\text{O}_2$ の濃度それぞれを求める、求めた $^1\text{O}_2$ の濃度それを(5)式中の S_T に代入するとともに、先に求められた対照区用混合溶液内の $^1\text{O}_2$ の濃度を S_c に代入し、複数の第1の混合溶液それぞれについて、 $^1\text{O}_2$ の消去率を求める。また、上記の第1の混合溶液は、 OC^- と H_2O_2 とが反応する前において、 OC^- の濃度が $30 \mu\text{M}$ 、 NaOC の濃度が $0.67 \mu\text{M}$ で含まれるように調製された溶液であるが、今度は逆に、 OC^- と H_2O_2 とが反応する前において、 OC^- の濃度が $0.67 \mu\text{M}$ 、 NaOC の濃度が $30 \mu\text{M}$ で含まれる(つまり、 OC^- の濃度が薄く、 OC^- の濃度が濃くなる)ように、上記複数の消去剤溶液それぞれと、 H_2O_2 溶液と、 NaOC 溶液とを混合して第2の混合溶液を複数調製する。このように調製された複数の第2の混合溶液内それぞれの $^1\text{O}_2$ の濃度それぞれを求める、求めた $^1\text{O}_2$ の濃度それを(5)式中の S_T に代入するとともに、先に求められた対照区用混合溶液内の $^1\text{O}_2$ の濃度を S_c に代入し、複数の第2の混合溶液それぞれについて、 $^1\text{O}_2$ の消去率を求める。

【0041】図2は、上記のようにして求められた複数

の第1、第2の混合溶液内の $^1\text{O}_2$ の消去率それぞれと、消去剤溶液に含まれる消去剤の希釈率との関係を表す図である。

【0042】棒グラフIは、上記のようにして求められた複数の第1の混合溶液内の $^1\text{O}_2$ の消去率と、消去剤溶液に含まれる消去剤の希釈率との関係を表すグラフであり、棒グラフIIは、上記のようにして求められた複数の第2の混合溶液内の $^1\text{O}_2$ の消去率と、消去剤溶液に含まれる消去剤の希釈率との関係を表すグラフである。各棒グラフI、IIの横軸は、第1、第2の混合溶液の調製に用いられる消去剤溶液に含まれる消去剤の希釈率(消去剤溶液に含まれる消去剤の濃度)であり、縦軸は $^1\text{O}_2$ の消去率である。この図2には、消去剤が、 OC^- 、 H_2O_2 、および $^1\text{O}_2$ のうち、いずれに対して消去能を有するかに応じて、棒グラフIと棒グラフIIとの相対的な関係を表す3つのパターンa、b、cが示されている。

【0043】これら3つのパターンa、b、cそれぞれについて、棒グラフI、IIの消去率Eが $0\% < E < 100\%$ に変化するときの希釈率の範囲(以下、この希釈率の範囲を消去能消失レンジと呼ぶ) R_E を求める。

【0044】ここで、 OC^- 、 H_2O_2 が互いに反応する前において、第1の混合溶液に含まれる OC^- 、 H_2O_2 の濃度と、第2の混合溶液に含まれる OC^- 、 H_2O_2 の濃度とは、互いに逆転している。従って、第1、第2の混合溶液それぞれに消去剤が混合されていないと仮定すると、第1、第2の混合溶液内に生成する $^1\text{O}_2$ 濃度は同じである。このため、消去剤が、 OC^- 、 H_2O_2 、および $^1\text{O}_2$ のうち、いずれに対して消去能を有するかに応じて、棒グラフIと棒グラフIIとの相対的な関係を表すパターンが異なる。具体的には以下のとおりである。

【0045】パターンaでは、棒グラフI、IIそれぞれについて、希釈率を表す横軸に関する消去能消失レンジ R_E の位置は互いに一致している。つまり、第1、第2の混合溶液の調製に用いられる消去剤溶液に含まれる消去剤の希釈率が等しい場合、第1、第2の混合溶液の $^1\text{O}_2$ の消去率はほぼ等しい。従って、消去剤は、 OC^- 、 H_2O_2 、および $^1\text{O}_2$ のうち、 $^1\text{O}_2$ に対して消去能を有すると判定される。

【0046】パターンbでは、棒グラフIIの、希釈率を表す横軸に関する消去能消失レンジ R_E の位置は、棒グラフIと比較して高希釈率側にシフトしている。つまり、第2の混合溶液において消去率をゼロに近づけるには、第1の混合溶液よりも、消去剤溶液に含まれる消去剤の希釈率を大きくし、消去剤の濃度を薄くする必要がある。従って、消去剤は、 OC^- および H_2O_2 のうち、第2の混合溶液内において濃度の薄い方の OC^- に対して消去能を有すると判定される。

【0047】また、パターンcでは、パターンbとは逆に、棒グラフIの、希釈率を表す横軸に関する消去能消

失レンジ R_E の位置は、棒グラフIIと比較して高希釈率側にシフトしている。つまり、第1の混合溶液において消去率をゼロに近づけるには、第2の混合溶液よりも、消去剤溶液に含まれる消去剤の希釈率を大きくし、消去剤の濃度を薄くする必要がある。従って、消去剤は、 OCl^- および H_2O_2 のうち第1の混合溶液内において濃度の薄い方の H_2O_2 に対して消去能を有すると判定される。

【0048】このように、図2を参照することにより、消去剤が、 OCl^- 、 H_2O_2 、および 1O_2 のうち、いずれに対して消去能を有するかを判定できる。尚、本実施形態では、図2の棒グラフで表されるような、 1O_2 の消去率と希釈率との関係を求めるために、消去剤が異なる希釈率で希釈されてなる複数の消去剤溶液を用いて、複数の第1、第2の混合溶液を調製しており、これら混合溶液は、第1の混合溶液、第2の混合溶液の順で調製されているが、これら混合溶液の調製順序は反対であってもよい。

【0049】ところで、上記の方法で、消去剤が、 OCl^- 、 H_2O_2 、および 1O_2 のうち、いずれに対して消去能を有するかを判定するにあたっては、第1、第2の混合溶液内の OCl^- および H_2O_2 の濃度によって、消去剤の濃度は制約を受ける。例えば、 1O_2 が基底状態酸素に緩和する過程で放出される1300nm帯の光を検出する検出器の感度が低い場合、 OCl^- および H_2O_2 の濃度を濃くする必要があるが、この OCl^- および H_2O_2 の濃度と比べて、はるかに消去剤の濃度が薄いときは、たとえ消去剤が、 OCl^- 、 H_2O_2 、および 1O_2 のうち、いずれかに対して消去能を有していても、その消去剤がいずれに対して消去能を有するかを判定することはできない。従って、混合溶液内の消去剤の濃度を濃くする必要がある。

【0050】また、本実施形態では、第1、第2の混合溶液内の 1O_2 の濃度に加えて、参考区混合溶液を調製してその参考区混合溶液内の 1O_2 の濃度を求め、それら求めた 1O_2 の濃度から消去率を算出し、その消去率と希釈率との関係から、消去剤が、 OCl^- 、 H_2O_2 、および O_2 のうち、いずれに対して消去能を有するかを判定し

ているが、第1の混合溶液について求められた 1O_2 の濃度と消去剤の希釈率との関係と、第2の混合溶液について求められた 1O_2 の濃度と消去剤の希釈率との関係とは、消去剤が、 OCl^- 、 H_2O_2 、および 1O_2 のうち、いずれに対して消去能を有するかに応じて異なる。従って、参考区混合溶液内の 1O_2 の濃度を求めなくとも、第1、第2の混合溶液について求められた 1O_2 の濃度と消去剤の希釈率との関係に基づいて、消去剤が、 OCl^- 、 H_2O_2 、および 1O_2 のうち、いずれに対して消去能を有するかを判定してもよい。

【0051】また、本実施形態では、棒グラフI、IIの、希釈率を表す横軸に関する消去能消失レンジ R_E の位置を比較して、消去剤が、 OCl^- 、 H_2O_2 、および 1O_2 のうち、いずれに対して消去能を有するかを判定しているが、消去能消失レンジ R_E の位置を比較する代わりに、例えば、棒グラフI、IIの、消去能消失レンジ R_E 内における希釈率が最大値（最小値）になるときの消去率の変化点どうしを比較したり、棒グラフI、IIの、消去能消失レンジ R_E 内における希釈率が中間値（つまり50%）になるときの消去率の変化点どうしを比較したりすることにより、消去剤が、 OCl^- 、 H_2O_2 、および 1O_2 のうち、いずれに対して消去能を有するかを判定してもよい。

【0052】さらに、本実施形態では、消去剤が、 OCl^- 、 H_2O_2 、および 1O_2 のうち、いずれに対して消去能を有するかを判定しているが、例えば、消去剤が 1O_2 を消失する有無のみを判定したい場合は、棒グラフI、IIの、希釈率を表す横軸に関する消去能消失レンジ R_E の位置が互いに一致するか否かのみを調べればよい。

【0053】

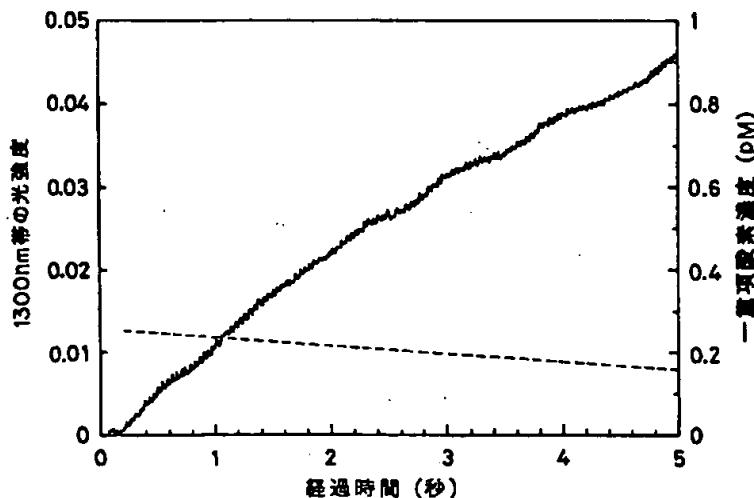
【発明の効果】以上説明したように、本発明の消去剤消去能判定方法によれば、 1O_2 消去剤が 1O_2 に対して消去能をもつか否かを容易に判定することができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】 1O_2 の濃度変化を示すグラフである。

【図2】複数の第1、第2の混合溶液内の 1O_2 の消去率それぞれと、消去剤溶液に含まれる消去剤の希釈率との関係を表す図である。

【図1】



【図2】

混合溶液 の種類 パターン	棒グラフ I	棒グラフ II	判定
	第1の混合溶液 (高濃度OCl ⁻ /低濃度H ₂ O ₂)	第2の混合溶液 (低濃度OCl ⁻ /高濃度H ₂ O ₂)	
a.			一重項酸素 消去
b.			OCl ⁻ 消去
c.			H ₂ O ₂ 消去

!(9) 000-193653 (P2000-1958)

フロントページの続き

(72)発明者 牧内 正男
山形県山形市松栄2丁目2番1号 株式会
社生体光情報研究所内

F ターム(参考) 2G045 AA40 BA13 BB41 DA75 DB21
DB30 FA11 FA29 GC15 JA01
2G054 AA02 AB10 BB10 BB20 CA07
CA10 CB02 EA01 EB04 GA01